

## Résumé

Sur la station expérimentale de Guyane, 31 clones d'hévéa, originaires d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, sont placés dans un dispositif à petite échelle face aux contaminations naturelles de *Microcyclus ulei*, agent responsable du SALB.

Plusieurs composantes de la résistance générale sont évaluées pendant trois ans. Les résultats obtenus permettent de distinguer trois groupes de clones suivant leur résistance et leur origine, et d'en sélectionner un certain nombre pour un programme d'amélioration génétique de la résistance, et pour leur développement en zone de *Microcyclus*. Une méthodologie pour l'évaluation précoce de la résistance de l'hévéa aux maladies foliaires, en particulier *M. ulei*, est aussi proposée.

## Abstract

The experimental station in French Guiana is testing 31 Hevea clones from Asia, Africa and Latin America in a small-scale trial naturally contaminated by *Microcyclus ulei*, which causes SALB. Several general resistance components were tested for three years. The results revealed that the clones fell into three groups according to their resistance and origin, and a certain number of them were selected for a breeding programme aimed at improving resistance and for testing in a *Microcyclus* zone. A methodology for the early evaluation of Hevea resistance to leaf diseases, particularly *M. ulei*, is also proposed.

## Resumen

En la estación experimental de Guayana, se instalaron en un dispositivo a pequeña escala 31 clones de hevea, oriundos de Asia, de África y de América latina, frente a las contaminaciones naturales de *Microcyclus ulei*, agente responsable del SALB. Se evaluaron varios componentes de la resistencia general durante tres años. Los resultados logrados permiten distinguir tres grupos de clones acorde a su resistencia y su origen, y seleccionar cierto número para un programa de mejoramiento genético de la resistencia, y para su desarrollo en zona de *Microcyclus*. También se propone una metodología para la evaluación precoz de la resistencia del hevea a las enfermedades foliares, especialmente *M. ulei*.

# La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa

## II. Evaluation précoce de la résistance des clones

### Rivano F.

CIRAD-CP, c/o Gremial de Huleros, 7a ave. 11-63, zona 9, Edificio España, 3<sup>e</sup> nivel, Guatemala CA, Guatemala

La menace permanente de l'introduction de *Microcyclus ulei*, agent causal du *South American Leaf blight* (SALB), dans les grandes zones de production de caoutchouc naturel d'Asie et d'Afrique, et les obstacles opposés par cette maladie au développement de l'hévéa-culture sur le continent américain, ont amené à concentrer les efforts français de recherche sur ce thème en Guyane (Rivano *et al.*, 1989).

Ces recherches sont orientées principalement sur l'étude du comportement des espèces du genre *Hevea*, de leurs hybrides et des clones d'intérêt agronomique dans des conditions éco-climatiques très favorables au SALB.

Les collections constituées depuis près de quinze ans sont constamment enrichies. Des champs de clones expérimentaux ont été mis en place, à petite échelle (clones en nombre élevé, effectifs réduits à moins de 50 individus par clone) et à grande échelle (nombre de clones réduit, effectifs supérieurs à 300 arbres par clone). Ce dispositif, installé en zone de forêt à 50 km de Kourou, est complété en ville d'un laboratoire de phytopathologie où une importante collection d'isolats du champignon parasite est cultivée.

Ces installations ont recueilli des informations sur l'adaptation du matériel végétal au milieu et, notamment, sur sa

sensibilité vis-à-vis de *M. ulei* et à d'autres parasites foliaires. Elles ont permis de mesurer la part qui revient aux interactions hôte-climat à travers la phénologie de l'arbre et celle des interactions parasite-climat dans la relation complexe qui lie la plante et l'agent pathogène. Ces études ont conduit à la mise au point d'une méthode d'évaluation au champ de la sensibilité de l'hévéa aux maladies foliaires, et en particulier à *M. ulei*.

Une approche complémentaire, consistant à étudier, en conditions contrôlées, la résistance partielle de l'hévéa, en pratiquant, sur des plants en pots, des inoculations artificielles de *M. ulei*, a permis d'arriver à des comparaisons clonales sur des bases quantitatives, tout en consolidant les résultats obtenus en champ (Rivano, 1992).

Ces résultats sont le préalable de tout programme d'amélioration génétique de l'hévéa visant à la création de matériel résistant à la maladie sud-américaine des feuilles.

L'amélioration de la résistance générale de l'hévéa passe nécessairement par l'identification et l'étude de ses composants (Chevaugnon, 1988).

Nous avons cherché à savoir ce que pouvait nous apporter l'étude comparative du comportement des clones d'hévéa en conditions agronomiques.



**Photo 1.** Lésions conidiennes sur la face inférieure des feuilles. / *Conidial lesions on the underside of leaves.*

**Photo 2.** Formation de périthèces sur la face supérieure des feuilles. / *Formation of perithecia on the upper side of leaves.*



## Méthodologie

Pour l'évaluation et la sélection précoce des clones, le dispositif expérimental le plus efficace est le champ de clones à petite échelle. Il permet d'étudier, pendant 3 à 5 ans, sur une surface de 1,5 ou 2 ha, le comportement et la résistance d'une trentaine de clones d'hévéa répartis en deux sous-expériences comportant 16 et 17 clones, où chaque clone est représenté par 2 répétitions de 10 arbres (Clément-Demange et al., 1995). Les caractères

qualitatifs et quantitatifs suivants sont observés mensuellement :

- présence ou absence de sporulation conidienne sur les feuilles encore jeunes ;
- présence ou absence de fructifications sexuées du champignon sur les feuilles âgées ;
- % d'arbres présentant de l'abscission sur les pousses terminales (taux de pointes sèches) ;
- mesure de la densité foliaire effectuée à partir de 3 ans, compte-tenu du développement des couronnes et de l'installation du phénomène naturel de défoliation-refoliation, qui peut interférer avec les effets de la maladie (estimation visuelle du % de feuillage présent par rapport au feuillage total potentiel) ;
- intensité d'attaque des jeunes feuilles, % de déformation des limbes suivant une échelle variant de 0 à 4 (Chee et Holliday, 1986) : 0 (1 % de la surface foliaire), 1 (1 à 5 %), 2 (6 à 15 %), 3 (16 à 30 %), 4 (30 %) ;
- intensité d'attaque des feuilles âgées, % de surface foliaire nécrosée ; échelle variant de 0 à 4, qui intègre le nombre et la taille des lésions par feuille (mêmes notations que pour les jeunes feuilles) ;
- relevé annuel de la circonférence du tronc à 1 m du sol, qui mesure l'incidence du SALB sur la croissance, par rapport aux résultats de croissance obtenus en Côte d'Ivoire.

Pour savoir si le champignon accomplit son cycle biologique complet, ou si celui-ci est interrompu plus ou moins tôt, la présence de la forme conidienne est

recherchée sur les jeunes feuilles au stade C, et celle de la forme parfaite sur feuilles adultes. Dans le premier cas il s'agit de déceler des traces de sporulation à la surface des lésions qui se trouvent sur la face inférieure des feuilles (photo 1) ; dans le deuxième cas ce sont des stromas noirs groupés en bordure des lésions nécrosées, sur la face supérieure des feuilles (photo 2). Le plus souvent un examen, au champ, à l'œil nu, est suffisant. Quelques cas litigieux nécessitent parfois le recours à la loupe binoculaire en laboratoire : aucun clone n'est totalement indemne d'attaque de divers parasites foliaires.

Dans le cas d'une absence de toute forme de fructification conidienne ou sexuée (périthèces), les symptômes se limitent à des petites taches chlorotiques ou nécrotiques ; quelquefois ce sont des intumescences faisant penser à des attaques de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.. Ces symptômes sont caractéristiques de la réaction d'hypersensibilité contrôlée par une résistance spécifique efficace. Dans ce cas, la résistance de l'hôte au parasite est qualifiée de totale ou complète car le champignon ne se développe pas et ne se multiplie pas (Van der Plank, 1968). La résistance totale (unisite) interdit à l'agent pathogène de se multiplier et de contribuer ainsi à la propagation d'une épidémie (Robinson, 1971, 1973, 1976 ; Parlevliet et Zadoks, 1977 ; Rapiilly, 1991).

A l'opposé, tout clone sur lequel *M. ulei* parvient à sporuler est classé dans la catégorie des clones à résistance partielle ou incomplète (multisite).

## Résultats

Dès la première année, les clones à résistance totale se différencient de ceux à résistance partielle (tableau 1).

Chez ces derniers, *M. ulei* sporule sur les feuilles. Cependant, on constate que certains d'entre eux ne développent pas de forme parfaite, caractère intéressant qui peut contribuer à freiner l'évolution de la population pathogène et prolonger l'efficacité des résistances spécifiques.

D'autre part, la composition de la population pathogène n'est pas figée : sur certains clones à résistance totale, on peut voir apparaître de nouveaux pathotypes capables de sporuler sur leurs feuilles (clones GU et IRCA 570).

Cette approche symptomatologique est la seule qui nous permette de préciser très tôt l'état des relations hôte-parasite et de distinguer les résistances totales des

F. RIVANO

F. RIVANO

Tableau 1. Réaction des clones d'hévéa aux contaminations naturelles de *M. ulei*.  
*Hevea clone reactions to natural contamination by M. ulei.*

Sous-expérience A/ Sub-trial A			Sous-expérience B/ Sub-trial B		
Clones	Sporulation	Stromas (périthèces) <i>Stromata (Perithecia)</i>	Clones	Sporulation	Stromas (périthèces) <i>Stromata (Perithecia)</i>
IRCA 19	++	+	IRCA 18	++	+
IRCA 109	++	+	IRCA 111	++	+
IRCA 229	++	+	IRCA 209	++	+
IRCA 570	+	-	IRCA 317	++	+
IRCA 573	++	+	IRCA 331	++	+
IRCA 621	+	+	IRCA 519	+	+
IRCA 652	+	+	PB 217	++	+
PB 235	++	+	PB 235	++	+
PB 311	++	+	AVROS 2037	++	+
PR 255	++	+	RRIC 101	++	+
RRIC 130	-	-	RRIC 132	-	-
CD 1078	+	+	GU 198	+	-
GU 164	+	-	RO 38	-	-
GU 176	+	-	IAN 873	-	-
GU 969	+	-	IAN 2878	-	-
IAN 717	-	-	IAN 3087	-	-
IAN 873	-	-			

- : absence de sporulation = résistance totale / -: no sporulation = total resistance

+ : sporulation faible /+: low sporulation; ++ : sporulation moyenne à forte = résistance partielle /++: average to high sporulation = partial resistance.

résistances partielles. C'est à ces dernières qu'on accorde le plus grand intérêt car, probablement de nature polygénique, on espère qu'elles seront plus difficiles à mettre en défaut par les races du champignon, et par conséquent plus durables (Simmonds, 1990 ; Rivano *et al.*, 1989).

### Taux d'abscission

Les observations sur les taux d'abscission ont débuté un an après la plantation, lorsque les premiers symptômes ont été observés sur quelques plants. L'installation généralisée de *M. ulei* sur toute la parcelle s'est effectuée en un an et demi (tableau 2). Les différences très marquées entre les clones permettent de distinguer trois ensembles :

- clones très sensibles à l'abscission (> 1/3 des arbres touchés) : clones d'origine purement Wickham (Asie) ;
- clones moyennement sensibles (entre 10 et 30 % des arbres sont atteints) : clones d'origine Wickham ;
- clones peu sensibles, voire totalement insensibles (< 10 % des arbres atteints) : tous sont issus de croisements Wickham x Amazonien (sauf RO 38 qui est purement amazonien).

### Densité foliaire

A partir de la 4<sup>e</sup> année, les mesures mensuelles de densité foliaire montrent, en

septembre, une baisse importante de la densité des feuilles (figure 1). Celle-ci correspond à la grande saison sèche de

l'année et, par conséquent, à une défoliation naturelle des arbres. L'examen de ces courbes permet de regrouper les clones

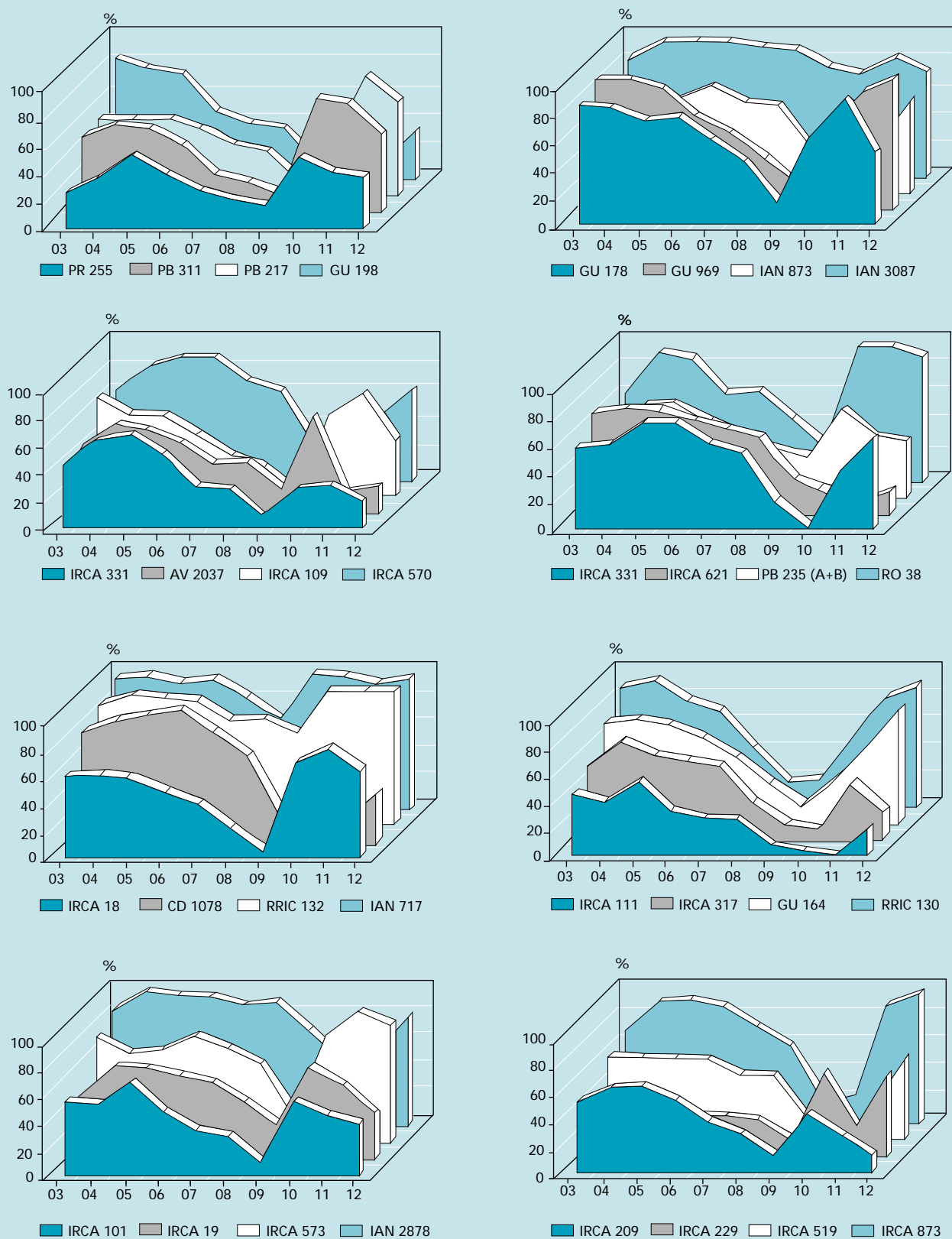
Tableau 2. Taux d'arbres présentant de l'abscission.

*Percentage of trees with abscission (mean of 12 monthly records in year 3).*

Sous-expérience A /Sub-trial A			Sous-expérience B /Sub-trial B		
Clones	Taux d'abscission* et groupes homogènes à 5 %** <i>Abscission rate* and uniform groups at 5% threshold**</i>		Clones	Taux d'abscission* et groupes homogènes à 5 %** <i>Abscission rate* and uniform groups at 5% threshold**</i>	
IRCA 229	33,8 a	Très sensibles	IRCA 317	45,4 a	Très sensibles
IRCA 19	30,7 a	<i>Highly susceptible</i>	IRCA 331	33,2 b	<i>Highly susceptible</i>
			IRCA 209	31,9 b	
PR 255	24,1 b		AVROS 2037	24,3 c	
PB 235	20,0 b	Sensibles	PB 235	20,8 c	Sensibles
IRCA 109	17,9 b	<i>Susceptible</i>	PB 217	14,3 d	<i>Susceptible</i>
PB 311	11,9 c		RRIC 101	11,6 de	
			IRCA 18	11,5 de	
IAN 873	4,7 d		GU 198	8,6 def	
IRCA 621	4,2 d		IRCA 519	7,7 def	
IRCA 652	2,6 d		IRCA 111	4,7 ef	
IRCA 573	2,3 d	Peu	IAN 873	4,2 ef	Peu
IRCA 570	2,3 d	sensibles	IAN 3087	3,3 ef	sensibles
RRIC 130	2,1 d	<i>Slightly</i>	RRIC 132	2,3 f	<i>Slightly</i>
CD 1078	0,8 d	<i>susceptible</i>	IAN 2878	1,6 f	<i>susceptible</i>
GU 969	0 d		RO 38	1,5 f	
GU 176	0 d				
GU 164	0 d				
IAN 717	0 d				

\* Moyenne de 12 relevés mensuels en 3<sup>e</sup> année. / Means of 12 month records in year 3.

\*\* Test de Newman-Keuls. / Newman-Keuls test.



**Figure 1.** Champs de clones à petite échelle : densité foliaire mensuelle à 4 ans. / *Small-scale clone trial: monthly foliage density at 4 years.*



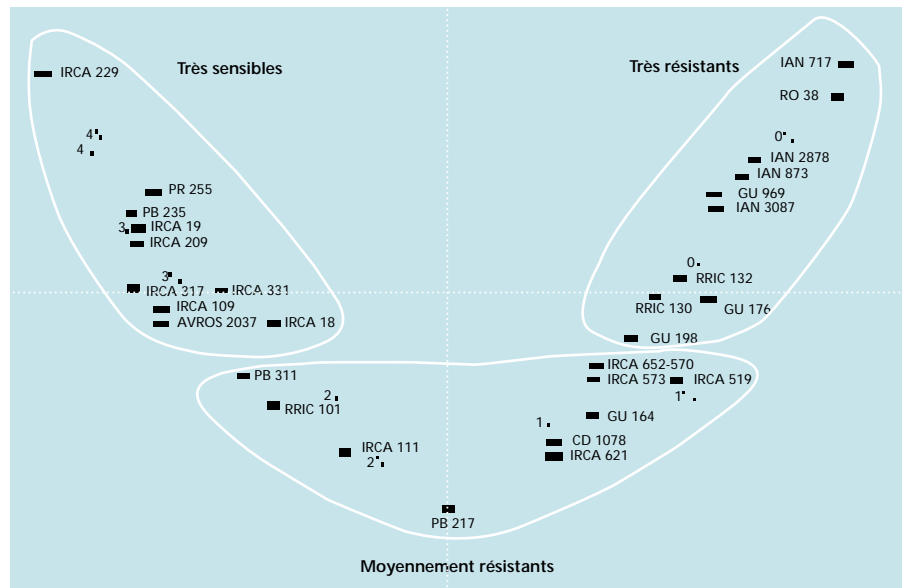
selon des caractéristiques comportementales communes :

- clones présentant une densité foliaire élevée toute l'année ; leur défoliation subite et rapide est suivie de la refoliation. Aucune abscission n'est observée chez ces clones (IAN 717 - 2878 - 3087 ; RRIC 132) ;
- clones ayant une densité foliaire satisfaisante, défoliant progressivement et peu sensibles à l'abscission (GU 176 - 969 ; IAN 873 ; RO 38 ; CD 1078 ; RRIC 130 ; IRCA 570) ;
- clones ayant la majeure partie de l'année une densité foliaire moyenne (entre 50 % et 70 %). Ils ne montrent pas d'abscission importante des jeunes feuilles, mais une chute partielle de feuilles âgées sous l'effet de parasites secondaires, comme *Phyllachora huberi* et *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (GU 164 - 198 ; IRCA 519 - 573 - 621 - 652) ;
- clones ayant une faible densité foliaire tout au long de l'année et présentant une abscission importante des jeunes feuilles (PB 217 - 235 - 311 ; RRIC 101 ; PR 255 ; AVROS 2037 ; IRCA 18 - 19 - 109 - 111 - 209 - 229 - 317 - 331).

### Intensité d'attaque

Les intensités d'attaque sur jeunes feuilles et sur feuilles âgées (appelées aussi notes de sensibilité) ont fait l'objet d'une analyse factorielle des correspondances, dans laquelle les notes enregistrées sont considérées comme des variables actives (figure 2). Cette analyse fait ressortir les éléments suivants :

- trois groupes de points apparaissent sur le plan principal formé par les deux premiers axes : des clones dont les notes de sensibilité sont majoritairement comprises entre 0 et 1, des clones opposés dont les notes sont surtout comprises entre 3 et 4, un groupe intermédiaire constitué de clones dont les notes se situent entre 1 et 2 ;
- deux axes suffisent pour expliquer entre 75 % et 90 % de la variation totale des individus. Seul le graphe correspondant aux axes principaux 1 et 2 est représenté ;
- les variables 0 à 4 (jeunes feuilles) et 0' à 4' (feuilles adultes) sont bien représentées sur l'axe 1, qui oppose les notes 0 et 1 à 2,3 et 4 ; les contributions relatives de ces notes sur l'axe 1 sont nettes. Le deuxième axe oppose les notes 1 et 2 à 0 et 4 ;
- les variables 0 à 4 pour les jeunes feuilles, et 0' à 4' pour les feuilles âgées, sont assez voisines sur le graphe ;



**Figure 2.** Répartition des clones d'après l'AFC réalisée à partir des notes d'intensité d'attaque de *Microcyclus ulei* sur jeunes feuilles (5 variables : 0 à 4) et sur feuilles âgées (5 variables : 0' à 4'). / Clone distribution according to the FAC carried out on *Microcyclus ulei* attack intensity marks on young leaves (5 variables : 0 to 4) and adult leaves (5 variables : 0' to 4'). AFC : analyse factorielle des correspondances. / FAC : Factorial analysis of correspondences.

- l'étude des clones fait apparaître des contributions relatives pour l'axe 1, importantes pour la plupart d'entre eux, et une bonne qualité de représentation sur cet axe.

Ainsi, l'axe 1 (horizontal) oppose deux groupes de clones :

- IAN 717 - 873 - 2878 - 3087 ; RO 38 ; GU 176 - 164 - 969 - 198 ; RRIC 130 - 132, IRCA 519 - 652, caractérisés par des notes 0 et 1 ;
- IRCA 19 - 209 - 229 - 317 - 331 ; PR 255 ; PB 235 ; AVROS 2037, caractérisés par des notes 3 et 4.

Le deuxième axe (vertical) oppose les clones :

- IAN 717 ; IAN 2878 ; RO 38 ; IRCA 229 ; PB 235 ; PR 255 ;
- CD 1078 ; IRCA 621 ; IRCA 111 ; RRIC 101 ; PB 217 ; c'est-à-dire les clones à résistance totale à ceux dont la résistance est partielle, mais encore les clones à résistance partielle faible (notes 4 : IRCA 229) à ceux qui ont un meilleur niveau de résistance partielle, c'est-à-dire ceux qui n'ont pas ou très peu de notes 4 d'intensité d'attaque (IRCA 111 ; RRIC 101 ; PB 217 par exemple).

### Comportement clonal

On observe globalement une certaine stabilité du comportement clonal dans le temps. La mise en évidence de 3 groupes de clones distingués par leur sensibilité à *M. ulei* se confirme : deux groupes très

opposés par leur forte sensibilité (clones orientaux) ou leur forte résistance (clones sud-américains), et un groupe intermédiaire (clones orientaux ou clones hybrides orientaux et sud-américains).

Les différences de comportement qui apparaissent dès la deuxième année se confirment les années suivantes. Trois années d'observations semblent donc suffire pour différencier et caractériser les clones dans ce type d'essai.

La croissance comparée des arbres en Côte d'Ivoire et en Guyane, au-delà de différences attribuables au climat et au sol, fait ressortir les mauvaises croissances en Guyane des clones IRCA 18 - 19 - 209 - 229 - 331 ; PB 235, et dans une moindre mesure des clones IRCA 111 ; RRIC 101 ; PB 217 ; AVROS 2037 (tableaux 3 et 4). En combinant avec les observations sur les taux d'abscission et la sensibilité foliaire, on peut conclure que :

- les clones à meilleures croissances sont ceux possédant : soit une résistance totale à *M. ulei* : RRIC 132 ; IAN 3087 - 2878 - 873 - 717 ; RO 38, caractérisée par des notes 0 et 1 de sensibilité foliaire, des taux d'abscission négligeables et l'absence de sporulation ; soit une résistance partielle de bon niveau : GU 164 - 198 - 969 ; IRCA 519 - 570 - 573 - 621 - 652 ; CD 1078, caractérisée par des notes de sensibilité foliaire faibles de 0, 1 voire 2, une abscission modérée, et une sporulation conidienne faible à moyenne ;

Tableau 3. Croissance à 4 ans de 33 clones en champ comparatif à petite échelle.  
Growth at 4 years of 33 clones in a small-scale comparative trial.

Sous-expérience A / Sub-trial A				Sous-expérience B / Sub-trial B			
Clones	Circonférence à 1 m en cm Girth at 1 m in cm	Groupe homogène à 5 %** Uniform groups at 5% threshold**	Accroissement en cm à 3-4 ans Increase in cm from 3-4 years	Clones	Circonférence à 1 m en cm Girth at 1 m in cm	Groupe homogène à 5 %** Uniform group at 5% threshold**	Accroissement en cm à 3-4 ans Increase in cm from 3-4 years
IRCA 652	33,4	a	6,9	GU 198	33,6	a	9,3
IRCA 573	33,1	a	8,2	IAN 3087	32,7	a	9,2
GU 164	31,5	ab	8,3	IRCA 519	31,6	ab	6,6
IRCA 621	31,2	ab	7,5	RRIC 132	31,2	ab	9,6
IAN 873	30,3	ab	6,7	IAN 2878	31,1	ab	8,4
CD 1078	30,1	ab	6,7	IRCA 111	29,4	abc	5,9
IRCA 570	29,9	ab	6,4	IAN 873	28,6	abc	6,6
IAN 717	29,6	ab	6,1	RRIC 101	27,3	abc	4,7
GU 969	28,2	ab	7,9	PB 217	26,7	abc	5,0
RRIC 130	26,6	bc	6,4	AVROS 2037	23,3	abcd	3,7
GU 176	25,4	bc	7,8	IRCA 18	21,6	bcde	5,0
PB 311	22,4	cd	3,8	*RO 38	20,8	cde	6,6
IRCA 109	20,1	de	3,8	PB 235	16,5	def	4,9
IRCA 19	18,4	de	4,1	IRCA 331	13,5	ef	2,6
PB 235	16,9	e	4,0	IRCA 317	12,5	f	3,2
IRCA 229	11,7	f	1,5	IRCA 209	11,8	f	2,4
PR 255	10,6	f	1,7				

\*RO 38 âgé de 3 ans et 3 mois au lieu de 4 ans. / RO 38 aged 3 years and 3 months rather than 4 years.

\*\* Test de Newman Keuls. / Newman-Keuls test.

- les croissances les plus faibles sont observées chez des clones dont le niveau de résistance partielle est médiocre : IRCA 18 - 19 - 109 - 209 - 229 - 317 - 331 ; PB 235 ; PR 255. Chez ces clones, les taux d'abscission sont élevés, les notes de sensibilité sur feuilles sont majoritairement de 2 à 4, et *M. ulei* sporule abondamment ;
- quelques clones se situent dans une groupe de croissance intermédiaire car ils ont : soit une résistance totale ou partielle élevée (RRIC 130 et GU 176). Mais ils sont peu vigoureux malgré leur résistance à *M. ulei*, soit une résistance partielle apparemment faible (notes de sensibilité foliaire de 2 et 3, voire 4), la sporulation est assez forte, les taux d'abscission sont plutôt élevés, et pourtant leur croissance n'est pas ridicule : cas de IRCA 111 ; RRIC 101 ; PB 217 - 311 ; AVROS 2037. Il pourrait s'agir dans ce cas d'une certaine forme de tolérance à la maladie.

## Discussion - Conclusion

Les résultats acquis par l'étude de facteurs qualitatifs et quantitatifs permettent de regrouper les clones d'après leur résistance à *M. ulei*, et suivant leur origine géographique ou leur provenance.

On a mis en évidence le bon comportement des clones issus de croisements Wickham x Amazonien (origine Amérique du Sud ou centrale, IRCA Côte d'Ivoire, et aussi Ceylan) qui possèdent les meilleures vigueur et qui sont généralement caractérisés par une bonne résistance. Il s'agit soit de résistance totale, lorsqu'aucune trace de sporulation n'a été constatée (IAN 717 - 873 - 2878 - 3087 ; RO 38 - 573 ; RRIC 132), soit d'une résistance partielle de bon niveau lorsque la forme conidienne a été observée (IRCA 652 - 621 - 519 - 570 - 573 ; GU 164 - 198 - 969 ; CD 1078). Ces clones sont également peu sensibles au phénomène d'abscission et présentent une densité foliaire satisfaisante toute l'année.

Quelques clones issus de croisements W x W se distinguent par d'assez bonnes croissances, malgré une sensibilité certaine à *M. ulei* : IRCA 111 ; RRIC 101 ; PB 217. Ces clones possèdent une résistance générale qu'il convient d'étudier plus en détail en conditions contrôlées. Les taux d'abscission enregistrés sont moyens, parfois élevés, ce qui se traduit par une densité foliaire moyenne à faible toute l'année.

Les clones restants sont tous d'origine W x W et proviennent soit d'Asie, soit d'Afrique (Côte d'Ivoire). Très sensibles à *M. ulei*, leur développement s'en trouve compromis :

PR 255 ; PB 235 ; PB 311 ; IRCA 18 - 19 - 109 - 209 - 229 - 317 - 331.

Ce type d'expérience permet notamment :

- d'observer et de décrire avec précision le comportement d'environ 30 clones, sur une surface relativement réduite (1,5 ha), et d'en tirer des conclusions fiables après 3-4 ans ;
- de caractériser pour chacun la relation hôte-parasite et de distinguer les résistances totales des résistances partielles ;
- d'apporter des connaissances nouvelles sur la résistance générale et en particulier d'appréhender les éléments impliqués dans cette résistance (interruption du cycle du champignon, résistance à l'abscission, faible surface foliaire nécrosée). La structure de cet essai permet au parasite d'exercer sur le peuplement hôte une pression régulière et assez forte (du fait de la densité élevée, de 650 arbres/ha), mais sans empêcher les résistances partielles de s'exprimer ;
- de mettre en évidence des réactions hypersensibles qui révèlent la présence de gènes de résistance verticale non surmontés ;
- de sélectionner un certain nombre de clones pour une étude plus approfondie des composants de la résistance

Tableau 4. Croissances\* et notes SALB\*\* de quelques clones d'hévéa en Côte d'Ivoire et en Guyane.  
*Growth\* and SALB marks\*\* for some Hevea clones in Côte d'Ivoire and French Guiana.*

Clones	2 ans /2 years		3 ans /3 years		4 ans /4 years		Notes SALB à 2 ans /SALB marks at 2 years		
	C I	GUY /F G	C I	GUY /F G	C I	GUY /F G	J F /Y L	F A /A L	% ABS
IRCA 18	18,2	11,2	30,8	16,6	40,9	21,6	1,3	2,2	11,5
IRCA 19	19,8	10,9	32,3	14,3	42,7	18,4	1,5	2,1	30,8
IRCA 109	-	11,5	20,5	16,3	-	20,1	1,2	1,8	17,9
IRCA 111	24,1	13,7	36,6	23,5	46,1	29,4	1,1	2,1	4,7
IRCA 209	19,1	7,9	31,8	9,4	42,0	11,8	1,6	2,4	31,9
IRCA 229	14,0	8,3	23,9	10,2	-	11,7	1,9	2,3	33,8
IRCA 331	13,2	8,3	23,3	10,9	-	13,5	2,6	2,5	33,2
RRIC 101	20,5	13,2	28,6	22,6	38,4	27,3	1,1	1,8	11,6
PB 217	16,1	13,5	25,2	21,7	36,7	26,7	1,2	1,4	14,3
PB 235	17,8	9,2	29,1	12,2	43,3	16,7	1,6	2,3	20,0
AVROS 2037	16,0	12,0	26,3	19,6	38,9	23,3	1,6	2,2	24,3

\*Circonférence à 1 m en cm. / Girth at 1 m in cm.

\*\* Notes SALB : notes moyennes d'intensité d'attaque à 2 ans sur jeunes feuilles (J F), sur feuilles adultes (F A), et taux d'abscission (% ABS). / SALB marks: mean marks for attack intensity at 2 years on young leaves (Y L) and adult leaves (A L), and abscission rates (ABS %).

CI : Côte d'Ivoire ; GUY : Guyane Française/ F G : French Guiana

générale, éventuellement pour une utilisation dans un programme de croisements en vue d'améliorer cette résistance ;

- de suivre l'évolution de la population du pathogène en isolant de nouvelles races qui apparaîtraient sur des clones protégés jusque là par une résistance totale ;
- d'écarter les clones dont le niveau de résistance partielle est trop faible et d'en avertir les pays qui utilisent ce matériel à grande échelle ;
- de repérer des clones à potentiel de production connu et qui pourraient être testés dans d'autres régions en vue de leur développement ;
- d'étudier, en parallèle, le comportement de ces clones face à d'autres parasites foliaires tels que *Phyllachora huberi* et *Thanatephorus cucumeris* qui font partie du complexe parasitaire de l'hévéa sur le continent américain et dont l'incidence est considérée par certains auteurs comme secondaire. Ils peuvent cependant occasionner, à certains stades de développement des arbres, des chutes de feuilles non négligeables (Langford, 1953).

L'étude du comportement clonal en conditions naturelles comprend cependant des limites que nous devons rappeler :

- des composants directs de la résistance partielle peuvent difficilement être étudiés au champ. Ainsi, la taille et le nombre des lésions, la période de latence infectieuse, l'intensité de sporulation, etc., dépendent des facteurs climatiques, de la pression d'inoculum et du stade de développement foliaire, facteurs que

nous ne pouvons pas contrôler au champ. D'où la nécessité de compléter cette étude par des inoculations artificielles réalisées en conditions contrôlées de température et d'humidité (chambre climatique). La notation de la sensibilité des jeunes feuilles (échelle de déformation des limbes de 0 à 4) intègre ces différents composants ; ce n'est que par un nombre élevé d'observations que nous pouvons caractériser les niveaux de résistance d'un clone et comparer les clones entre eux ;

- la mesure du taux d'abscission, ou la densité foliaire à partir de 3 ans, donne une bonne indication de la sévérité des attaques du parasite et de la sensibilité des clones. Toutefois, à partir de 3 ans pour les arbres les plus vigoureux, 4 ans pour les autres, le phénomène naturel de défoliation-refoliation se met en place de manière plus ou moins homogène et régulière. Il interfère alors avec les défoliations dues à *M. ulei* et l'interprétation des observations effectuées directement sur les arbres devient difficile. Néanmoins, à partir de cet âge de la plantation, l'essentiel des informations sur le comportement différentiel des clones a été obtenu.

Ce type d'essai s'apparente au modèle de « verger-piège », dispositif de plantation multivariétal à haute densité conçu pour suivre l'évolution des populations de *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint., agent responsable de la tavelure du pommier (Olivier et Lespinasse, 1982).

Cette expérience nous a montré que, dans un contexte où la diversité génétique de l'hôte était importante, la population du

parasite pouvait s'exprimer sous différentes formes. Les études sur la structure de la population de *M. ulei* ont montré qu'il existait en Guyane une grande diversité du parasite. Certains pathotypes sont cependant absents, certains clones sont en l'occurrence toujours protégés par des gènes de résistance verticales « forts » (Van der Plank, 1968 ; Rivano, 1992, 1997). ■

## Bibliographie / References

- CHEE K.H., HOLLIDAY P., 1986. South american leaf blight of Hevea rubber. Kuala Lumpur, Malaisie, MRRDB, MRRDB Monographs 13, 50 p.
- CHEVAUGEON J., 1988. Rapport de mission en Guyane et au Brésil : 23 juin au 11 juillet 1988. Paris, France, IRCA, 24 p. (document interne).
- CLÉMENT-DEMANGE A., NICOLAS D., LEGNATÉ H., RIVANO F., LE GUEN V., GNAGNE M., CHAPUSET T., 1995. Hévéa : stratégies de sélection. Plant. Rech. Dév. 2 (3) : 5-14.
- LANGFORD M.H., 1953. Hevea diseases of the Amazon valley. Bol. Tec. Inst. Agron. Norte 27, 29 p.
- OLIVIER J.M., LESPINASSE Y., 1982. Résistance du pommier à la tavelure *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. : sources de résistance, comportement du parasite, programme de sélection. Cryptogamie, Mycologie 3 : 361-375.
- PARLEVLIET J.E., ZADOKS J.C., 1977. The integrated concept of disease resistance ; a new view including horizontal and vertical resistance in plants. Euphytica (26) : 5-21.
- RAPILLY F., 1991. L'épidémiologie en pathologie végétale : mycoses aériennes. Paris, France, INRA, Mieux comprendre, 317 p.

- RIVANO F. 1992. La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa. Etude, en conditions naturelles et contrôlées, des composantes de la résistance partielle à *Microcyclus ulei* (P. Henn). V. Arx. Thèse de doctorat, université de Paris XI, Orsay, France, 260 p.
- RIVANO F. 1997. La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa. I. Variabilité du pouvoir pathogène de *Microcyclus ulei*. Plant. Rech. Dév. 4 (2) : 104-114.
- RIVANO F., NICOLAS D., Chevaugéon J., 1989. Résistance de l'hévéa à la maladie sud-américaine des feuilles. Perspectives de lutte. Rev. Gén. Caoutch. Plast. 66 (690) : 199-206.
- ROBINSON R.A., 1971. Vertical resistance. Rev. Plant Pathol. 50 : 233-239.
- ROBINSON R.A., 1973. Horizontal resistance. Rev. Plant Pathol. 52 : 483-501.
- ROBINSON R.A., 1976. Plant pathosystems. Berlin, Allemagne, Springer Verlag, 184 p.
- SIMMONDS N.W., 1990. Breeding horizontal resistance to South American Leaf Blight of rubber.. Nat. Rubber Res. 5 (2) : 102-113.
- VAN DER PLANK J.E., 1968. Disease resistance in plants. New York (Etats-Unis), Academic Press, 206 p.

## South American Leaf Blight of *Hevea*

### II. Early evaluation of clonal resistance

#### Rivano F.

CIRAD-CP, c/o Gremial de Huleros, 7 a ave. 11-63, zona 9, Edificio España, 3<sup>e</sup> nivel, Guatemala CA, Guatemala

The constant threat of introducing *Microcyclus ulei*, which causes South American Leaf Blight (SALB), in the major natural rubber production zones in Asia and Africa, and the obstacle the disease poses to rubber development in the Americas have led French research to concentrate on this topic in French Guiana (Rivano *et al.*, 1989).

Research is primarily geared towards studying the performance of species from the *Hevea* genus, their hybrids and clones of high agronomic value in eco-climatic conditions highly propitious to SALB.

The collections built up over almost 15 years are constantly being added to. Clone trials have been set up, on a small scale (a large number of clones but fewer than 50 individuals per clone) and on a large scale (small number of clones, over 300 individuals per clone). The structure, in a forest area 50 km from Kourou, is backed up by a plant pathology laboratory in town, culturing a large collection of fungal isolates.

These installations recently collected information on planting material adaptation to the environment, especially its susceptibility to *M. ulei* and other leaf parasites. The proportion of its susceptibility that could be put down to host-climate interactions via tree phenology and that due to parasite-climate interactions within the complex relation linking the plant and the pathogen was determined. These studies led on to a field test to evaluate *Hevea* susceptibility to leaf diseases, particularly *M. ulei*.

An additional study of *Hevea* partial resistance under controlled conditions by artificially inoculating potted plants with *M. ulei* provided quantitative comparisons of the

different clones whilst consolidating the results obtained in the field (Rivano, 1992).

These results are a prerequisite for any *Hevea* breeding programme aimed at creating planting material resistance to South American Leaf Blight.

Improving general resistance in *Hevea* inevitably means identifying and studying its components (Chevaugéon, 1988).

We attempted to find out how useful a comparative study of *Hevea* clone performance under field conditions would be.

#### Methodology

The most effective experimental design for early clone evaluation and selection is the small-scale clone trial. These trials cover 1.5 to 2 ha, and study over three to five years the performance and resistance of some thirty *Hevea* clones split into two sub-trials of 16 or 17 clones, with each clone represented by two replicates of ten trees (Clément-Demange *et al.*, 1995). The following qualitative and quantitative characters are observed monthly:

- existence or absence of conidial sporulation on young leaves;
- existence or absence of sexed fungal fructification on older leaves;
- % of trees with abscission of the terminal shoots (dry tip rate);
- foliage density measurements from three years onwards, taking account of canopy development and the installation of natural defoliation-refoliation, which can interfere with the effects of the disease (visual estimate of the actual % of foliage in relation to potential total foliage);

- attack intensity on young leaves, % lamina deformation on a scale of 0 to 4 (Chee and Holliday, 1986): 0 (1% of the leaf area), 1 (1 to 5%), 2 (6 to 15%), 3 (16 to 30%), 4 (30%);
- attack intensity on older leaves, % of leaf area with necrosis; scale of 0 to 4, based on lesion number and size per leaf (same marks as for young leaves);
- annual records of trunk girth 1 m from the ground, which measures SALB impact on growth in relation to the growth results obtained in Côte d'Ivoire.

To determine whether the fungus completes its biological cycle, or whether it is interrupted at one stage or another, the conidial form is sought on stage C young leaves and the perfect form on adult leaves. In the former case, the aim is to detect traces of sporulation on the surface of the lesions on the underside of the leaves (photo 1); in the latter case, to detect black stromata on the edge of the necrotic lesions on the upper side of the leaves (photo 2). Field observations with the naked eye are generally sufficient, although some dubious cases may mean using a binocular microscope in the laboratory: no clone is totally free from attacks by various leaf parasites.

If there is no sign of any form of conidial or sexed fructification (perithecia), the symptoms are limited to small chlorotic or necrotic patches; there are sometimes swellings that resemble *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. attacks. These symptoms are characteristic of the hypersusceptibility reaction controlled by effective specific resistance. In this case, host resistance to the parasite is classed as total or



complete, since the fungus fails to develop or multiply (Van der Plank, 1968). Total (single-site) resistance prevents the pathogen multiplying and contributing to an epidemic (Robinson, 1971, 1973, 1976; Parlevliet and Zadoks, 1977; Rapilly, 1991).

At the other end of the scale, any clone on which *M. ulei* manages to sporulate is considered to have partial or incomplete (multi-site) resistance.

## Results

Right from year one, the clones with total resistance could be differentiated from those with partial resistance (table 1).

In the latter, *M. ulei* sporulated on the leaves. However, some did not develop the perfect form, an interesting factor that could help to slow pathogen development and prolong the efficacy of specific forms of resistance.

Moreover, pathogen population composition was not fixed: in certain clones with total resistance, new pathotypes sometimes appeared that could sporulate on their leaves (GU and IRCA 570 clones).

This symptomatological approach is the only one that can provide an early picture of host-parasite relations and distinguish between total and partial resistance. Priority is given to the latter, since it is probably polygenic and will hopefully be more difficult for fungal races to overcome, consequently longer-lasting (Simmonds, 1990; Rivano *et al.*, 1989).

## Abscission rates

Abscission rate observations began a year after planting, once the first symptoms had been observed on a few plants. The widespread establishment of *M. ulei* in the plot took a year and a half (table 2). The very marked differences between the clones revealed three groups:

- clones highly susceptible to abscission (1/3 of trees affected): clones of purely Wickham origin (Asia);
- moderately susceptible clones (between 10 and 30% of trees affected): clones of Wickham origin;
- clones only slightly susceptible, if at all (10% of trees affected): all came from Wickham x Amazon crosses (except RO 38 which was pure Amazon).

## Foliage density

From year four onwards, monthly foliage density measurements revealed a significant drop in foliage density in September (figure 1). This drop corresponded to the main dry season, consequently to natural defoliation. Judging by the graphs drawn, the clones could be split into

groups according to their performance characteristics:

- clones with a high foliage density all year round; their sudden and rapid defoliation was followed by refoliation. No abscission was observed in these clones (IAN 717 - 2878 - 3087; RRIC 132);
- clones with a satisfactory foliage density that defoliated gradually and were not very susceptible to abscission (GU 176 - 969; IAN 873; RO 38; CD 1078; RRIC 130; IRCA 570);
- clones that had an average foliage density for most of the year (between 50 and 70%). Abscission was not significant on young leaves, but partial loss of older leaves was observed, due to secondary parasites such as *Phyllachora huberi* and *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (GU 164 - 198; IRCA 519 - 573 - 621 - 652);
- clones with a low foliage density all year long and with substantial young leaf abscission (PB 217 - 235 - 311; RRIC 101; PR 255; AVROS 2037; IRCA 18 - 19 - 109 - 111 - 209 - 229 - 317 - 331).

## Attack intensity

Attack intensity on young and older leaves (also called susceptibility marks) underwent factorial analysis of correspondences, considering the marks recorded as active variables (figure 2). The analysis revealed the following:

- three groups of points in the main plane formed by the first two axes: clones whose susceptibility marks were mostly between 0 and 1, clones at the other extreme whose marks were mostly between 3 and 4, and an intermediate group with marks between 1 and 2;
  - two axes are sufficient to explain between 75 and 90% of the total variation between individuals. Only the graph corresponding to the main axes, 1 and 2, is shown;
  - variables 0 to 4 (young leaves) and 0' to 4' (adult leaves) are clearly shown on axis 1, which opposes marks 0 and 1 to 2, 3 and 4; the relative contributions of these marks on axis 1 are clear. The second axis opposes notes 1 and 2 to 0 and 4;
  - variables 0 to 4 for young leaves and 0' to 4' for older leaves are quite close on the graph;
  - a clone study reveals mostly substantial relative contributions for axis 1 and good representation quality on this axis.
- Axis 1 (horizontal) opposes two groups of clones:

- IAN 717 - 873 - 2878 - 3087; RO 38; GU 176 - 164 - 969 - 198; RRIC 130 - 132, IRCA 519 - 652, characterized by marks 0 and 1;
  - IRCA 19 - 209 - 229 - 317 - 331; PR 255; PB 235; AVROS 2037, characterized by marks 3 and 4.
- The second axis (vertical) opposes clones:

- IAN 717; IAN 2878; RO 38; IRCA 229; PB 235; PR 255;
- CD 1078; IRCA 621; IRCA 111; RRIC 101; PB 217; i.e. clones with total resistance to those with partial resistance, and even those with low partial resistance (4 marks: IRCA 229) to those with a higher level of partial resistance, i.e. those with very few 4 marks for attack intensity (IRCA 111; RRIC 101; PB 217, for instance).

## Clone performance

Overall clone performance was relatively stable over time. The existence of three groups of clones according to their susceptibility to *M. ulei* was confirmed: two groups diametrically opposed by their high susceptibility (oriental clones) and their high resistance (South American clones), and an intermediate group (oriental clones or oriental and South American hybrid clones).

The performance differences seen in year two were confirmed in subsequent years. Three years' observations would therefore seem to be sufficient to differentiate between and characterize clones in this type of trial.

Besides the differences that could be put down to climate and soils, comparative tree growth in Côte d'Ivoire and French Guiana revealed the poor growth in French Guiana of clones IRCA 18 - 19 - 209 - 229 - 331; PB 235 and, to a lesser extent, IRCA 111; RRIC 101; PB 217; AVROS 2037 (tables 3 and 4). Combined with our observations of abscission rate and leaf susceptibility, we can conclude that:

- the clones that grow best are those with either total resistance to *M. ulei*: RRIC 132; IAN 3087 - 2878 - 873 - 717; RO 38, characterized by leaf susceptibility marks 0 and 1, negligible abscission rates and no sporulation, or a high level of partial resistance: GU 164 - 198 - 969; IRCA 519 - 570 - 573 - 621 - 652; CD 1078, characterized by low leaf susceptibility marks of 0, 1 or maybe 2, moderate abscission and low to average conidial sporulation;
- the clones that grow the least are those with mediocre partial resistance: IRCA 18 - 19 - 109 - 209 - 229 - 317 - 331; PB 235; PR 255. These clones have high abscission rates, leaf susceptibility marks mostly between 2 and 4 and abundant *M. ulei* sporulation;
- some clones are in an intermediate growth group as they have either total or high partial resistance (RRIC 130 and GU 176) but are not very vigorous despite their resistance to *M. ulei*, or apparently low partial resistance (leaf susceptibility marks of 2, 3 or even 4) with quite abundant sporulation, rather high abscission rates and yet relatively good growth (IRCA 111; RRIC 101; PB 217 - 311; AVROS 2037). In this case, this may simply reflect a certain form of disease tolerance.

## Discussion - Conclusion

The results obtained by studying qualitative and quantitative factors proved that clones could be grouped according to their resistance to *M. ulei* and to their geographical origin or provenance.

We demonstrated the good performance of clones obtained from Wickham x Amazon crosses (origin: South or Central America, IRCA Côte d'Ivoire and also Sri Lanka), which were the most vigorous and were generally characterized by good resistance, either total resistance if no trace of sporulation was seen (IAN 717 - 873 - 2878 - 3087; RO 38 - 573; RRIC 132), or a high level of partial resistance if the conidial form was observed (IRCA 652 - 621 - 519 - 570 - 573; GU 164 - 198 - 969; CD 1078). These clones were also only slightly susceptible to abscission and had a satisfactory foliage density all year long.

Some clones obtained from W x W crosses were distinguished by quite good growth despite a certain degree of susceptibility to *M. ulei*: IRCA 111; RRIC 101; PB 217. These clones had general resistance that should be studied in more detail under controlled conditions. The abscission rates recorded were average, sometimes high, reflected in an average to low foliage density all year long.

The remaining clones were all of W x W origin, either from Asia or from Africa (Côte d'Ivoire). They proved highly susceptible to *M. ulei*, which hampered their development: PR 255; PB 235; PB 311; IRCA 18 - 19 - 109 - 209 - 229 - 317 - 331. In particular, this type of experiment enables:

- precise observations and descriptions of the performance of around 30 clones, on a relatively limited area (1.5 ha), leading to reliable conclusions after three to four years;
- the characterization of host-parasite relations for each clone and a distinction between total and partial resistance;
- new knowledge of general resistance, particularly of the elements involved

(interruption of the fungus' cycle, resistance to abscission, limited leaf necrosis). The trial structure enables the parasite to exert regular, quite strong pressure on the host plant stand (given the high density of 650 trees/ha), but does not prevent partial resistance being expressed;

- the detection of hypersusceptibility reactions reflecting the existence of vertical resistance genes that have not been overcome;
- the selection of a certain number of clones for a more in-depth study of general resistance components, possibly for use in a crossing programme to improve resistance;
- monitoring of pathogen population development by isolating new races that may appear on clones previously protected by total resistance;
- the elimination of clones whose partial resistance is too weak, warning countries that use such material on a large scale;
- the identification of clones with a known production potential that could be tested in other regions with a view to their development;
- parallel studies of the performance of these clones in the face of other leaf parasites such as *Phyllachora huberi* and *Thanatephorus cucumeris*, which are part of the *Hevea* parasite complex in the Americas and whose incidence is considered by some authors to be of secondary importance. However, they can cause substantial leaf fall at certain stages of development (Langford, 1953).

Nevertheless, studies of clone performance under natural conditions do have their limitations:

- direct components of partial resistance are difficult to study in the field. For instance, lesion number and size, the length of time that the infection remains latent, sporulation intensity, etc. depend on climatic factors, inoculum pressure and the stage of leaf

development, which cannot be controlled in the field. Hence the need to complete this study with artificial inoculations under controlled temperature and RH conditions (climatic chamber). The young leaf susceptibility marking system (lamina deformation scale of 0 to 4) integrates these different components; a large number of observations are required to characterize the resistance level of a given clone and compare clones with one another;

- measuring the abscission rate or foliage density from three years on gives a good indication of the severity of parasite attacks and of clone susceptibility. However, from three years on for the most vigorous trees and from four years on for the others, the natural defoliation-refoliation phenomenon comes into play in a more or less uniform, regular fashion. It subsequently interferes with defoliation due to *M. ulei*, and it becomes difficult to interpret the observations made directly on the trees. Nevertheless, by this stage, most of the information on the differences in clone performance has already been obtained.

This type of trial is similar to the "trap-planting" model, a high-density multi-varietal planting design intended to monitor population trends in *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint., which causes apple scab (Olivier and Lespinasse, 1982).

This trial showed that in a situation in which host genetic diversity was high, the parasite population was able to express itself in different forms. Studies of *M. ulei* population structure revealed substantial parasite diversity in French Guiana. However, certain pathotypes were absent, and some clones were consistently protected by "strong" vertical resistance genes (Van der Plank, 1968; Rivano, 1992, 1997). ■